8 月 August
2019, 62(8): 948 – 959

昆 虫 学 报
ACTA ENTOMOLOGICA SINICA

http://www.insect.org.cn
doi: 10.16380/j.kcxb.2019.08.007

低致死剂量氯虫苯甲酰胺对沟金针虫食物利用和相关生理生化指标的剂量和时间效应

何发林[1], 乔治华[1], 姚向峰[1], 于灏泳[1], 孙石昂[1], 李向东[1], 张吉旺[2], 姜兴印[1,*]

(1. 山东农业大学植物保护学院, 农药毒理与应用技术省级重点实验室, 山东泰安 271018;
2. 山东农业大学农学院, 作物生物学国家重点实验室, 山东泰安 271018)

摘要:【目的】明确氯虫苯甲酰胺对沟金针虫 *Pleonomus canaliculatus* 亚致死效应的生理生化机制, 阐明氯虫苯甲酰胺低致死剂量对沟金针虫食物利用、能量物质含量以及体内消化酶、保护酶和解毒酶活力的影响。【方法】室内采用土壤混药法测定氯虫苯甲酰胺对沟金针虫 3 龄幼虫毒力, 并测定了氯虫苯甲酰胺 LC_{10}, LC_{25} 和 LC_{40} 低致死剂量对沟金针虫 3 龄幼虫营养指标和体内能量物质含量的影响; 采用酶动力学法检测了氯虫苯甲酰胺低致死剂量处理 1, 6, 12, 24, 48 和 72 h 后沟金针虫 3 龄幼虫体内消化酶(蛋白酶、α-淀粉酶、脂肪酶、海藻糖酶)、保护酶(CAT, POD 和 SOD)以及解毒酶(CarE, MFO 和 GST)活力的动态变化。【结果】氯虫苯甲酰胺对沟金针虫 3 龄幼虫有较高毒力, 其 LC_{50} 值为 1.2397 mg/kg。LC_{10} 和 LC_{40} 剂量氯虫苯甲酰胺处理沟金针虫 3 龄幼虫后, 平均相对生长率(MRGR)和近似消化率(AD)显著降低, 严重干扰其对食物的利用; LC_{10}, LC_{25} 和 LC_{40} 剂量处理后沟金针虫 3 龄幼虫体内主要的能量物质(蛋白质、脂质、碳水化合物、海藻糖)含量和消化酶活力均明显降低, 而解毒酶和保护酶活力显著增加, 最终延缓其生长发育。【结论】氯虫苯甲酰胺对沟金针虫幼虫具有很高的杀虫活性, 低致死剂量氯虫苯甲酰胺处理沟金针虫幼虫后, 通过抑制消化酶活性, 使其对食物的利用能力降低和生长发育延缓, 以及诱导解毒酶和保护酶活性来阻止外界毒物侵害。研究结果为阐明氯虫苯甲酰胺对沟金针虫的亚致死效应机制及作用机理提供了一定的理论基础。

关键词: 沟金针虫; 氯虫苯甲酰胺; 毒力; 亚致死效应; 消化酶; 保护酶; 解毒酶; 酶活力

中图分类号: Q965.9　　**文献标识码**: A　　**文章编号**: 0454-6296(2019)08-0948-12

Dose-response and time-effect relationships of low lethal doses of chlorantraniliprole on food utilization and related physiological and biochemical parameters in *Pleonomus canaliculatus* (Coleoptera: Elateridae)

HE Fa-Lin[1], QIAO Zhi-Hua[1], YAO Xiang-Feng[1], YU Hao-Yong[1], SUN Shi-Ang[1], LI Xiang-Dong[1], ZHANG JI-Wang[2], JIANG Xing-Yin[1,*] (1. Key Laboratory of Pesticide Toxicology & Application Technique, College of Plant Protection, Shandong Agricultural University, Tai'an, Shandong 271018, China; 2. State Key Laboratory of Crop Biology, College of Agronomy, Shandong Agricultural University, Tai'an, Shandong 271018, China)

Abstract:【Aim】To explore the physiological and biochemical mechanism of the sublethal effect of

基金项目: 国家重点研发计划(2018YFD0200604); 山东省现代农业产业技术体系(SDAIT-02-10); 山东"双一流"奖补项目(SYL2017-XTTD11)

作者简介: 何发林, 男, 1991 年 6 月生, 贵州遵义人, 硕士研究生, 研究方向为农药毒理与有害生物抗药性, E-mail: 18763828523@163.com

* 通讯作者 Corresponding author, E-mail: xyjiang@sdau.edu.cn

收稿日期 Received: 2019-03-29; 接受日期 Accepted: 2019-05-27

chlorantraniliprole against *Pleonomus canaliculatus*, and to elucidate the effects of low lethal doses of chlorantraniliprole on food utilization, the contents of biochemical substances used as energy sources and the activities of digestive enzymes, protective enzymes and detoxification enzymes in *P. canaliculatus* larvae. 【Methods】The toxicity of chlorantraniliprole against the 3rd instar larvae of *P. canaliculatus* was determined by soil mixed pesticide method in the laboratory. The effects of chlorantraniliprole at the LC_{10}, LC_{25} and LC_{40} doses on the nutritional indices and contents of biochemical substances used as energy sources in *P. canaliculatus* larvae were determined. The dynamic changes in the activities of digestive enzymes (protease, α-amylase, lipase and trehalase), protective enzymes (CAT, POD and SOD) and detoxifying enzymes (CarE, MFO and GST) in the 3rd instar larvae of *P. canaliculatus* at 1, 6, 12, 24, 48 and 72 h after exposure to chlorantraniliprole were detected by enzyme kinetic method. 【Results】Chlorantraniliprole had higher toxicity to the 3rd instar larvae of *P. canaliculatus*, with the LC_{50} value of 1.2397 mg/kg. The mean relative growth rate (MRGR) and approximate digestibility (AD) were significantly decreased when the 3rd instar larvae of *P. canaliculatus* were exposed to LC_{25} and LC_{40} of chlorantraniliprole, leading to serious disturbance of their food utilization. Chlorantraniliprole at LC_{10}, LC_{25} and LC_{40} doses significantly decreased the contents of protein, lipid, carbohydrate and trehalose, and the activities of protease, α-amylase, lipase and trehalose, significantly increased the activities of detoxifying enzymes (CarE, MFO and GST) and protective enzymes (CAT, POD and SOD) in the 3rd instar larvae of *P. canaliculatus* treated with these doses of chlorantraniliprole, and caused the delayed growth and development of the treated larvae. 【Conclusion】Chlorantraniliprole has high insecticidal activity against *P. canaliculatus* larvae. In *P. canaliculatus* larvae exposed to low lethal doses of chlorantraniliprole, the activities of digestive enzymes are inhibited, resulting in the reduction of food utilization and delaying the growth and development of *P. canaliculatus*, and the activities of detoxifying and protective enzymes are induced, preventing the invasion of external toxicants. These results provide a theoretical basis for elucidating the mechanisms of sublethal effect and action of chlorantraniliprole against *P. canaliculatus*.

Key words: *Pleonomus canaliculatus*; chlorantraniliprole; toxicity; sublethal effects; digestive enzyme; protective enzyme; detoxifying enzyme; enzyme activity

金针虫是鞘翅目(Coleoptera)叩甲科(Elateridae)昆虫幼虫的统称,俗称铁丝虫、铁条虫等,在世界各地均有分布,危害严重,是一类重要的地下害虫(赵江涛和于有志, 2010)。主要为害花生、小麦、玉米、马铃薯等农作物,能咬食刚播下的种子、幼苗根部以及钻蛀地下果实,常造成缺苗断垄(王浩杰等, 2008)。在我国为害最严重的种类有沟金针虫 *Pleonomus canaliculatus*、细胸金针虫 *Agriotes subrittatus*、宽背金针虫 *Selatosomus latus* 和褐纹金针虫 *Melanotus caudex*,其中又以沟金针虫发生为害最为严重(Zhang *et al*., 2017)。近年来,由于免耕技术、秸秆还田、轮作模式等农业种植制度的改变,为该虫提供了隐蔽的场所,其生活环境有了很大的改善,造成寄生虫源多,越冬虫口基数大,加重了其为害程度,导致农作物产量损失严重(张美翠等, 2014; 陆俊姣等, 2017)。

一直以来,生产上防治地下害虫主要采用有机磷类、氨基甲酸酯类以及苯基吡唑类等传统药剂,其防治效果也较高(陈建明等, 2006; 席国成等, 2012),但其中许多农药品种属于高残留或高、剧毒品种。随着高残留或剧毒药剂的禁用或限用,导致市场上地下害虫防治药剂稀缺(宫庆涛等, 2016; 朱秀蕾等, 2017)。氯虫苯甲酰胺是由杜邦公司发现并开发的新型杀虫剂(徐尚成等, 2008),除对鳞翅目害虫高效以外,对鞘翅目、双翅目、半翅目等多种非鳞翅目害虫也有很好的防治效果(徐尚成等, 2008; 杜军辉等, 2013)。研究表明氯虫苯甲酰胺能防治花生田地下害虫蛴螬(刘顺通等, 2009; 王淑枝等, 2014);作者实验室的前期试验表明氯虫苯甲酰胺种子处理对沟金针虫也有较好的防治效果(何发林等, 2019)。

杀虫剂在田间施用后,因各种因素的影响使药

剂的浓度逐渐降低至亚致死剂量而不足以杀死靶标害虫，但该剂量可引起害虫取食能力、生长发育、繁殖、种群水平及药剂代谢能力等发生改变，即产生亚致死效应（Rakotondravelo *et al.*，2006；Vojoudi *et al.*，2011）。金针虫由于生活历期长，且有世代重叠现象，研究药剂对其生长发育影响有一定的难度，目前，国内外尚未有氯虫苯甲酰胺低致死剂量对沟金针虫相关生理生化指标影响的相关报道。本研究在测定氯虫苯甲酰胺对沟金针虫3龄幼虫毒力的基础上，测定了该药剂对沟金针虫幼虫营养指标和能量物质含量的影响，以及采用酶动力学法测定 LC_{10}，LC_{25} 及 LC_{40} 剂量氯虫苯甲酰胺对沟金针虫幼虫体内消化酶、保护酶和解毒酶活性动态变化的影响，探讨低致死剂量氯虫苯甲酰胺对沟金针虫食物利用和相关生理生化指标的剂量和时间效应，为深入了解沟氯虫苯甲酰胺对沟金针虫亚致死效应的作用机理及应用氯虫苯甲酰胺科学合理地防治沟金针虫提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料及仪器

1.1.1 供试虫源：沟金针虫 *P. canaliculatus* 幼虫采自山东省宁阳县堽城镇得时村小麦田，将采集的幼虫置于装有湿度为15% ~18%土壤的饲养盒（50 cm×25 cm×20 cm）内饲养，以发芽的小麦种子作为食物来源，幼虫饲养条件为温度20±1℃、相对湿度40% ~50%、无人工补充光照条件的人工智能养虫室。成虫放入50 cm×25 cm×20 cm饲养盒内，下部填充稍压实的壤土，上覆湿润、松软且富有腐殖质的10 cm湿土（含水量15% ~18%），在土表层放入带土团的麦苗作为饲料，垫入少量干草作为成虫活动的保护层，饲养密度为150~200头/盒，室内恒定条件下（温度20~25℃，相对湿度60% ±10%）饲养。挑选健康活泼、大小一致（平均虫重0.1512~0.1827 g）的3龄幼虫作为试虫。

1.1.2 供试药剂：95.3%氯虫苯甲酰胺原药，美国富美实公司生产。

1.1.3 主要仪器：Synergy™ 2多功能酶标仪，美国伯腾仪器有限公司；Thermo超低温（-80℃）冰箱，赛默飞世尔科技公司；BT 125D万分之一电子天平，赛多利斯科学仪器（北京）有限公司；TGL-16aR高速冷冻离心机，上海安亭科学仪器厂等。

1.2 氯虫苯甲酰胺对沟金针虫的毒力测定

参照党志红等（2009）的土壤混药法研究氯虫苯甲酰胺对沟金针虫的致死效应。将供试药剂用丙酮配制成一定质量母液，用0.05% Triton X-100水溶液将母液等比稀释成系列试验浓度。试验用土过20目筛，用远红外快速干燥器在120℃下消毒处理5 h，称取上述干土样1.0 kg/份，按剂量由低到高顺序将药剂加入干土中，加入蒸馏水使土壤含水量约18%，用"V"型混合机搅拌均匀，毒土装入直径1.8 cm，高8 cm的灭菌指形管，将健康活泼、体重相近的沟金针虫3龄幼虫转入指形管，以刚发芽的小麦种子作为食物，每管1头试虫。每处理30头，重复4次，共120头试虫，以0.05% Triton X-100水溶液作对照。处理后试虫的饲养条件同1.1.1节。5 d后检查试虫死亡情况，虫体明显收缩或触之不能正常爬动即为死亡。

1.3 营养指标的测定

根据毒力测定结果，选择 LC_{10}，LC_{25} 和 LC_{40} 3个低致死剂量研究氯虫苯甲酰胺对沟金针虫的亚致死效应。参照Cai等（2016）方法测定氯虫苯甲酰胺对沟金针虫食物利用的影响。生物测定方法同1.2节。挑选健康活泼、体重相近（0.1512~0.1827 g）的3龄幼虫，称重。将新鲜土豆切成约1 cm^3 的立方体入管内作为试虫食物来源。药剂处理15 d后，将试虫以及产生的粪便称重，根据以下公式计算试虫的营养指标：

（1）平均相对生长率（mean relative growth rate，MRGR）$=(\lg W_2-\lg W_1)/T\times100$；

（2）近似消化率（approximate digestibility，AD）$=[(Q-F)/Q]\times100$；

（3）摄入食物转化率（efficiency of conversion of ingested food，ECI）$=[(\lg W_2-\lg W_1)/Q]\times100$；

（4）消化食物转化率（efficiency of conversion of digested food，ECD）$=[(W_2-W_1)/(Q-F)]\times100$。

其中，T 为试验持续时间（d），W_1 为药前试虫重量（g），W_2 为药后试虫重量（g），Q 为试虫增加的重量（g），F 为试虫产生粪便的重量（g）。

1.4 能量物质含量的测定

生物测定方法同1.3节。分别于处理后1，6，12，24，48和72 h选取生长状况整齐一致的存活试虫，用液氮冷冻后保存于-80℃冰箱中备用。

1.4.1 碳水化合物含量测定：参照Zhao等（2016）的方法进行。取处理后试虫1头，置于预冷的5 mL玻璃匀浆器中，加入500 μL 10%三氯乙酸（TCA）后

冰浴研磨，将提取液转入 2 mL 的离心管中，于 20 000 r/min 4℃冷冻离心 10 min。在 96 孔酶标板中加入 30 μL 上清液和 70 μL 10% TCA 后混合，加入 600 μL 0.2% 蒽酮（200 mg 蒽酮溶解于 100 mL 98% H_2SO_4 中），然后于 90℃ 条件下水浴反应 10 min，于 630 nm 处测量吸光度。根据葡萄糖的标准曲线，对所有样品的碳水化合物含量进行定量。

1.4.2　脂质含量测定：参照 Yuval 等（2010）的方法进行。将处理后的试虫置于预冷的 5 mL 玻璃匀浆器中，加入 200 μL 2% Na_2SO_4 后冰浴研磨，用 750 μL甲醇：氯仿（1∶2，v/v）提取 4 h，混合液于 20 000 r/min 4℃冷冻离心 10 min。将 500 μL 上清液转入2 mL离心管中，在 40℃条件下干燥 12 h，加入500 μL 98% H_2SO_4 后于 90℃ 条件下水浴反应 10 min。在 96 孔酶标板中加入 30 μL 反应液和 270 μL香草醛试剂（6 mg 香草醛溶于 1 mL 去离子水和 4 mL 85% 的 H_3PO_4）。反应 30 min 后在 530 nm处测定吸光度，用胆固醇制备标准曲线。

1.4.3　海藻糖含量测定：参照 Zhao 等（2018）的方法进行。将处理后试虫 1 头置于预冷的 5 mL 玻璃匀浆器中，加入 100 μL 20 mmol/L 磷酸盐缓冲液（pH 5.8）后冰浴研磨，将提取液转入 2 mL 离心管中，于 20 000 r/min 4℃冷冻离心 10 min。在 2 mL 离心管加入 30 μL 上清液和 30 μL 1% H_2SO_4，在恒温控制水浴（90℃）中温育 10 min，冷却 3 min，加入 30 μL 30% KOH 后于水浴中温育 10 min（90℃），冷却 3 min，再加入 600 μL 0.2% 蒽酮，并且将混合物在 90℃再次温育 10 min，冷却后于 630 nm 处测量吸光度。以海藻糖建立标准曲线，将其用于确定海藻糖含量。

1.4.4　蛋白质含量测定：参照 Bradford（1976）考马斯亮蓝 G-250 方法进行。将处理后的试虫置于预冷玻璃匀浆器中，加入 600 μL 50 mmol/L Tris-HCl（0.5% Triton X-100，20% 蔗糖，pH 7.1）后冰浴研磨，将提取液转入 2 mL 离心管中，于 20 000 r/min 4℃冷冻离心 10 min。在 96 孔酶标板中加入 30 μL 上清液以及 150 μL 0.01% 考马斯亮蓝（染料），于 595 nm 处测定吸光度，蛋白含量使用基于牛血清白蛋白的标准曲线计算。

1.5　消化酶活力测定

1.5.1　蛋白酶活力测定：参照 Sandhya 等（2005）的方法进行。将处理后试虫 1 头置于预冷的 5 mL 玻璃匀浆器中，加入 100 μL 20 mmol/L 磷酸盐缓冲液（pH 7.0）后冰浴研磨，将提取液转入 2 mL 离心管中，于 20 000 r/min 4℃冷冻离心 10 min。酪蛋白作为酶反应底物。在 2 mL 离心管中加入 30 μL 上清液以及 100 μL 1% 酪蛋白，于 37℃ 水浴中温育 15 min，然后加入 100 μL 0.4 mmol/L TCA 中止反应，于 20 000 r/min 4℃冷冻离心 10 min。在离心管中加入 100 μL 上清液、500 μL 0.4 mol/L Na_2CO_3 和 100 μL Folin 酚试剂，混匀，于 37℃ 水浴中温育 30 min，于 660 nm 处测定吸光度，酪氨酸用于生成标准曲线。

1.5.2　脂肪酶活力测定：参照 Bernfeld 等（1955）的方法进行。粗酶提取同蛋白酶活力测定。在 96 孔酶标板中加入 10 μL 酶溶液、18 μL 50 mmol/L 4-硝基苯丁酸酯、172 μL 磷酸盐缓冲液（pH 7.0），在 37℃水浴中温育 15 min。于 −20℃条件下中止反应（5 min），于 405 nm 处测定吸光度，对硝基苯酚用来建立标准曲线。

1.5.3　α-淀粉酶活力测定：参照 Tsujita 等（1989）的方法进行。将处理后试虫置于预冷玻璃匀浆器中，加入 20 mmol/L 磷酸盐缓冲液（pH 6.9）后冰浴研磨，提取液转入 2 mL 离心管中，于 20 000 r/min 4℃低温离心 10 min。在 96 孔酶标板中加入 10 μL 上清液、40 μL 1% 可溶性淀粉和 50 μL 磷酸盐缓冲液，混匀，在 35℃ 水浴中反应 15 min。然后加入 100 μL二硝基水杨酸（DNS）后于沸水浴中加热 10 min，冰上冷却后，于 540 nm 处测定吸光度。使用麦芽糖建立标准曲线。

1.5.4　海藻糖酶活力测定：参照 Zhao 等（2016）的方法进行。在预冷玻璃匀浆器中加入处理后试虫 1 头和 20 mmol/L 磷酸盐缓冲液（pH 5.8）后冰浴研磨，将提取液转入 2 mL 离心管中，于 20 000 r/min 4℃低温离心 10 min。在 96 孔酶标板中加入 30 μL 上清液、60 μL 40 mmol/L 海藻糖，37℃水浴中反应 30 min，在沸水浴中加热 3 min 后在冰上冷却以中止反应，然后加入 90 μL 的指示剂染料（5 g 3,5-二硝基水杨酸、5 g NaOH、1 g 苯酚、0.25 g 无水亚硫酸钠溶于 500 mL 去离子水），于 90℃水浴中反应 5 min。在冰上冷却后，加入 30 μL 的酒石酸钠钾后于 550 nm 处测定吸光度。用葡萄糖建立标准曲线。

1.6　解毒酶活力测定

酶液制备：将处理后试虫 1 头置于预冷的 5 mL 玻璃匀浆器中，加入 1.5 mL 0.1 mol/L pH 7.8 的磷酸缓冲液（1 mmol/L EDTA，1 mmol/L DTT，1 mmol/L PTU，1 mmol/L PMSF）后冰浴研磨，将提取液转入 2 mL 的离心管中，于 15 000 r/min 4℃冷

冻离心 20 min，取上清液作为酶源备用。

1.6.1 羧酸酯酶（CarE）活力测定：参照贾变桃等（2016）和 Hama 和 Hosoda（1983）的方法，以 α-乙酸萘酯（α-NA）为底物（其中含毒扁豆碱 1×10^4 mol/L）测定酯酶的活力，显色液为 1% 固蓝 B 盐水溶液和 5% SDS 水溶液按照体积比为 2∶5配制而成（即用即配）。在 96 孔酶标板中依次加入 150 μL 1 mmol/L α-乙酸萘酯和 50 μL 稀释酶液。在 30℃条件下水浴反应 15 min，加入 20 μL 显色液混合液，在室温下静置 10 min，于 600 nm 处测定 OD_{600}值。

1.6.2 谷胱甘肽 S-转移酶（GST）活力测定：参照 Oppenoorth（1979）的方法并略有改动。用无水乙醇将 1-氯-2，4-二硝基苯（CDNB）配成 120 mmol/L 母液，用 0.1 mol/L pH 7.6 的磷酸缓冲液将母液稀释到 1.2 mmol/L 的底物溶液。然后在 96 孔酶标板中依次加入 10 μL 稀释酶液、100 μL 1.2 mmol CDNB 和 100 μL 6 mmol 还原型谷胱甘肽（GSH）（用 0.1 mol/L pH 7.6 的磷酸缓冲液现配现用），于 340 nm 处测定 OD_{340}值。

1.6.3 多功能氧化酶（MFO）活力测定：参照田雪莲等（2016）和 Yu 和 Nguyen（1992）的方法，用无水乙醇将对硝基苯甲醚配制成 400 mmol/L 母液，再用事先预热的 0.1 mol/L pH 7.8 的磷酸缓冲液将母液稀释到 2 μmol/L。在 96 孔酶标板中依次加入 100 μL 2 μmol/L 对硝基苯甲醚和 90 μL 稀释酶液，37℃温育 5 min，加入 10 μL 9.6 mmol/L NADPH，于 405 nm 处测定光密度值 OD_{405}。

1.7 保护酶活力测定

酶液制备同 1.5 节。

1.7.1 过氧化物酶（POD）活力测定：参照 Simon 等（1974）的方法进行，在 96 孔酶标板中依次加入 20 μL稀释酶液，再加入 200 μL 反应液（现配现用，含 0.05 mol/L 愈创木酚，2% H_2O_2，0.05 mol/L pH 6.0 磷酸缓冲液），混匀后在波长为 470 nm 处测定其吸光值。酶活力以 $\triangle OD_{470}$/min · mg pro 表示。

1.7.2 过氧化氢酶（CAT）活力测定：参照冯宏祖等（2008）方法进行，用蒸馏水将 H_2O_2 配制成 8% 工作液，在 96 孔 UV 板中依次加入 120 μL 0.1 mol/L pH 7.0 磷酸缓冲液和 60 μL 8% H_2O_2，再加入 20 μL 稀释酶液，在 25℃下进行酶促反应，在 240 nm 处测定其吸光值。CAT 活力单位定义为每毫克组织蛋白每秒分解的酶量为一个活力单位。

1.7.3 超氧化物歧化酶（SOD）活力测定：参照张金锋和薛庆中（2004）方法进行，略改进，提前配制反应液（含有 10 μmol/L EDTA，77 μmol/L NBT，15.6 mmol/L 甲硫氨酸，0.05 mol/L pH 7.0 的磷酸缓冲液，80 μmol/L 核黄素），在 96 孔酶标板中依次加入 200 μL 反应液和 20 μL 稀释酶液。置于 25℃ 4 000 lx 光下反应 15 min，黑暗法停止反应，在波长为 560 nm 处测定 OD_{560}值，以未光照的为对照，SOD 活力单位定义为以达到 50% 抑制率所需的酶量为一个活力单位。

1.8 数据分析

利用 Microsoft Excel 2016 软件记录和整理数据及 SPSS 24.0 软件进行线性回归分析、方差分析，用平均值 ± 标准误（*SE*）表示结果，采用单因素方差分析（ANOVA）进行差异显著性分析，应用 Duncan 氏新复极差法检验，以及采用 SigmaPlot 12.5 进行作图。

2 结果

2.1 氯虫苯甲酰胺对沟金针虫 3 龄幼虫的毒力

采用土壤混药法测定氯虫苯甲酰胺对沟金针虫 3 龄幼虫的毒力（表 1）。土壤混药处理 5 d 后，其 LC_{50} 为 1.2397 mg/kg，LC_{10}，LC_{25} 和 LC_{40} 分别为 0.8084，0.3971 和 0.1426 mg/kg，表明氯虫苯甲酰胺对沟金针虫具有很高杀虫活性。

表 1 氯虫苯甲酰胺对沟金针虫 3 龄幼虫的毒力

Table 1 Toxicity of chlorantraniliprole against the 3rd instar larvae of *Pleonomus canaliculatus*

杀虫剂 Insecticide	试虫数 N	斜率 ± 标准误 Slope ± *SE*	剂量 Dose (mg/kg) (95% CL) LC_{50}	LC_{40}	LC_{25}	LC_{10}	卡方值 χ^2 (*df*)	*P* 值 *P* value
氯虫苯甲酰胺 Chlorantraniliprole	600	8.97 ± 1.82	1.2397 (1.1389 – 1.3494)	0.8084 (0.7367 – 0.8870)	0.3971 (0.3485 – 0.4525)	0.1426 (0.1160 – 0.1752)	1.4237 (5)	0.9362

2.2 氯虫苯甲酰胺对沟金针虫 3 龄幼虫营养指标的影响

从图 1 可以看出，与对照相比，LC_{25} 和 LC_{40} 剂量氯虫苯甲酰胺处理后，沟金针虫 3 龄幼虫的平均相对生长率（MRGR）和近似消化率（AD）明显降低（$P<0.05$），而 LC_{10} 剂量处理对 MRGR 和 AD 无显

著影响($P > 0.05$)(图 1：A 和 D)。LC_{10}剂量处理组摄入食物转化率(ECI)降低，但与对照无显著性差异($P > 0.05$)，但 LC_{40}剂量处理后 ECI 却明显升高($P < 0.05$)(图 1：B)。LC_{25}和 LC_{40}剂量氯虫苯甲酰胺处理后，沟金针虫 3 龄幼虫消化食物转化率(ECD)显著升高($P < 0.05$)(图 1：D)。结果表明 3 个剂量氯虫苯甲酰胺处理严重影响了沟金针虫 3 龄幼虫对食物的利用以及生长发育，且剂量越高，对取食和生长影响越显著。同时，ECI 和 ECD 升高但 MRGR 降低可能是由于氯虫苯甲酰胺处理后，金针虫体内的能量物质可以暂时维持相对消化率，却无法维持相对生长量。

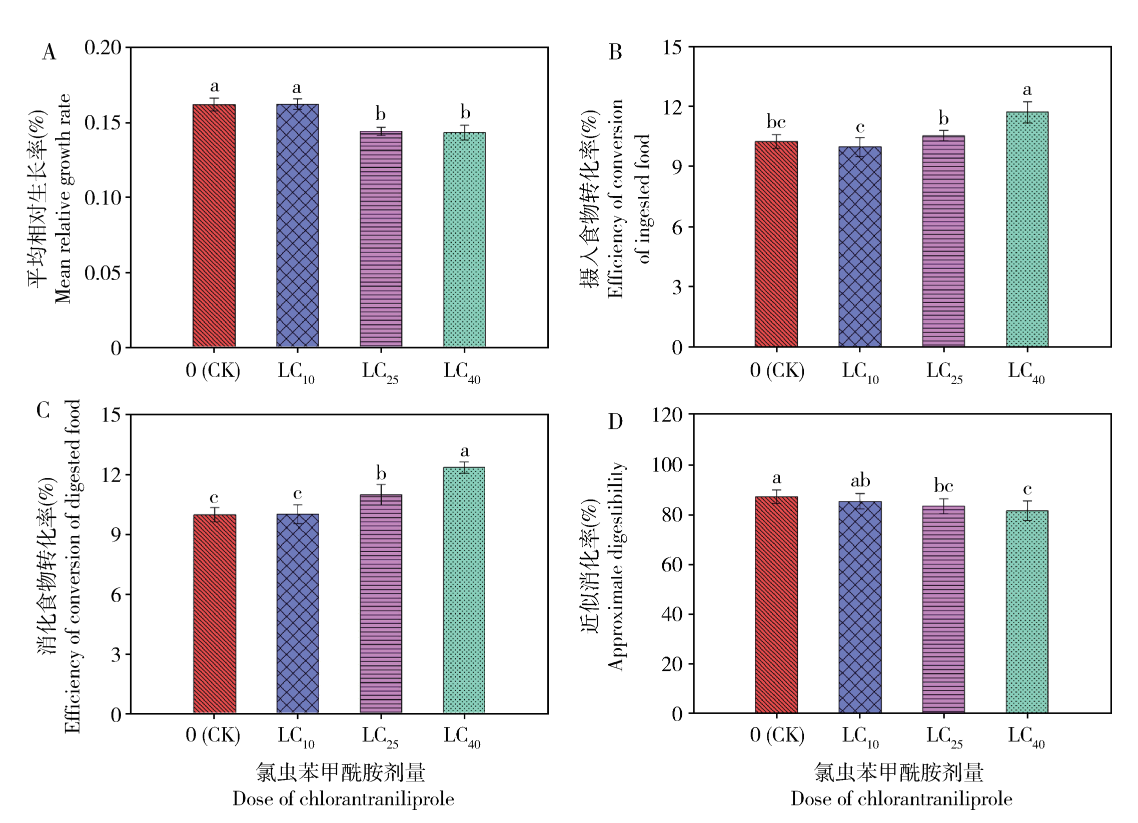


图 1　氯虫苯甲酰胺低致死剂量处理 15 d 对沟金针虫 3 龄幼虫营养指标的影响

Fig. 1　Effects of low lethal doses of chlorantraniliprole on nutritional indices of the 3rd instar larvae of *Pleonomus canaliculatus* (15 d)

A：平均相对生长率 Mean relative growth rate (MRGR)；B：摄入食物转化率 Efficiency of conversion of ingested food (ECI)；C：消化食物转化率 Efficiency of conversion of digested food (ECD)；D：近似消化率 Approximate digestibility (AD). CK：0.05% Triton X-100. 图中数据为平均值 ± 标准误；柱上不同小写字母表示经 Duncan 氏新复极差法检验差异显著($P < 0.05$)。Data are means ± *SE*. Different lowercase letters above bars indicate significant difference by Duncan's new multiple range test ($P < 0.05$).

2.3　氯虫苯甲酰胺对沟金针虫 3 龄幼虫能量物质含量的影响

氯虫苯甲酰胺低致死剂量处理对沟金针虫 3 龄幼虫体内主要能量物质具有明显影响(图 2)。由图 2(A)可知，在处理 12 h 时，LC_{25}剂量组蛋白质含量与对照相比无显著差异($P > 0.05$)，而 LC_{10}和 LC_{40}剂量组蛋白质含量显著低于对照($P < 0.05$)；在处理 6, 24, 48 和 72 h 时，LC_{10}, LC_{25}和 LC_{40}剂量组蛋白质含量均显著低于对照($P < 0.05$)。在处理 6 和 12 h 时，3 个低致死剂量氯虫苯甲酰胺处理组中脂质含量与对照相比无显著差异($P > 0.05$)，随着时间延长，各剂量处理组的脂质含量均显著低于对照($P < 0.05$)(图 2：B)。在处理 6 h 时，LC_{10}剂量处理组碳水化合物含量无显著差异($P > 0.05$)，但 LC_{25}和 LC_{40}处理组碳水化合物含量显著低于对照($P < 0.05$)；在处理 12, 24, 48 和 72 h 时，各剂量处理组脂质含量均显著低于对照($P < 0.05$)(图 2：C)。低剂量(LC_{10}, LC_{25}和 LC_{40})氯虫苯甲酰胺处理后，沟金针虫幼虫体内海藻糖含量明显降低，且剂量越高，海藻糖含量越低(图 2：D)。

2.4　氯虫苯甲酰胺对沟金针虫 3 龄幼虫消化酶活力的影响

氯虫苯甲酰胺对沟金针虫 3 龄幼虫消化酶活力的影响如图 3 所示。沟金针虫蛋白酶活力在氯虫苯

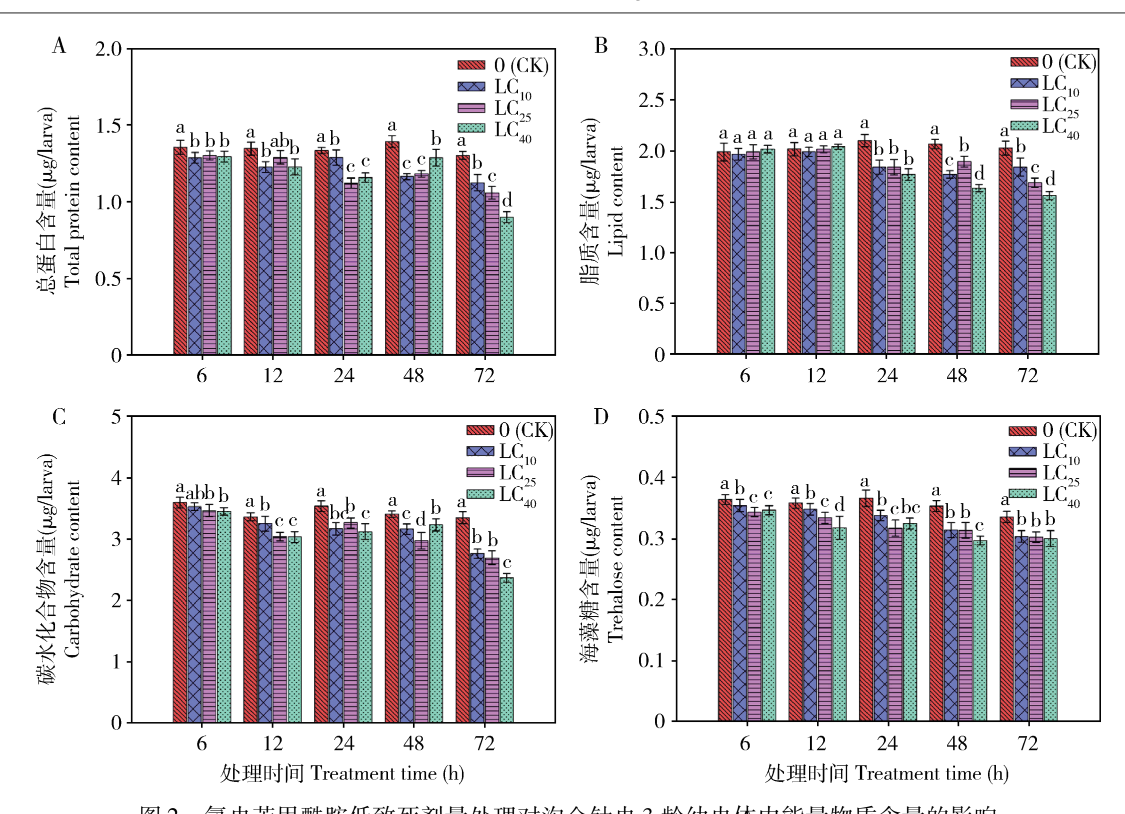


图 2 氯虫苯甲酰胺低致死剂量处理对沟金针虫 3 龄幼虫体内能量物质含量的影响

Fig. 2 Effects of low lethal doses of chlorantraniliprole on the contents of biochemical substances used as energy sources in the 3rd instar larvae of *Pleonomus canaliculatus*

A：蛋白质含量 Protein content；B：脂质含量 Lipid content；C：碳水化合物含量 Carbohydrate content；D：海藻糖含量 Trehalose content. CK：0.05% Triton X-100. 图中数据为平均值 ± 标准误；柱上不同小写字母表示同一时间不同剂量间检验差异显著($P<0.05$，Duncan 氏新复极差法)。图 3 和 4 同。Data are means ± *SE*. Different lowercase letters above bars indicate significant difference among different doses at the same treatment time by Duncan's new multiple range test ($P<0.05$). The same for Figs. 3 and 4.

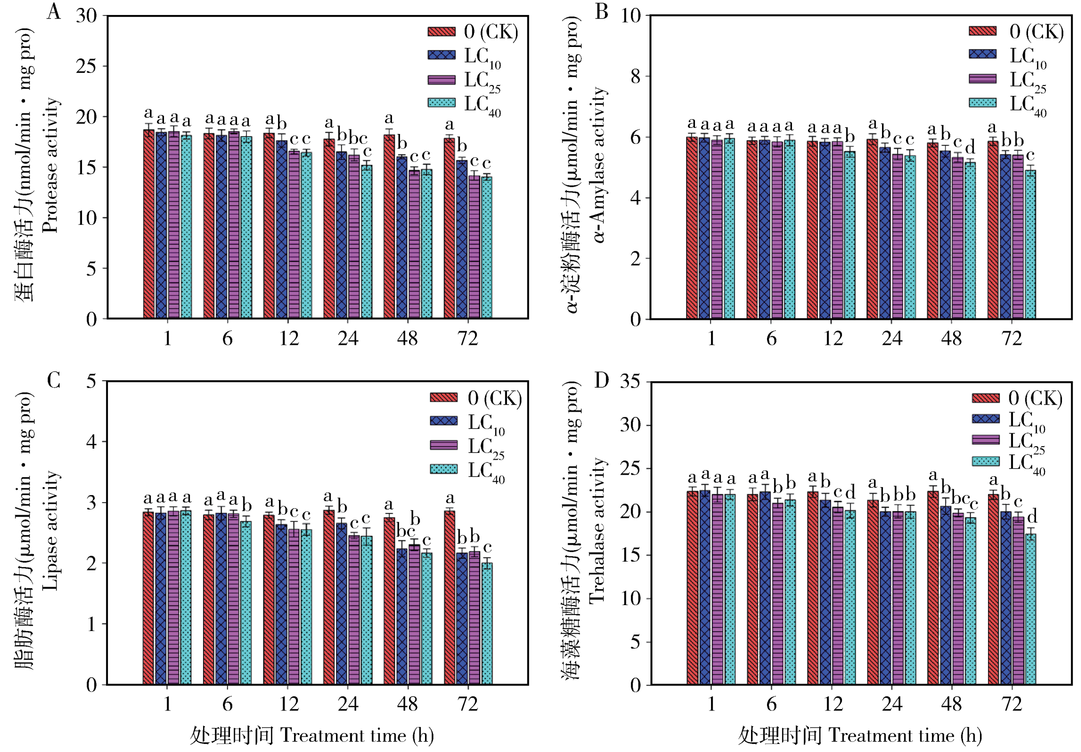


图 3 氯虫苯甲酰胺低致死剂量处理对沟金针虫 3 龄幼虫体内消化酶活力的影响

Fig. 3 Effects of low lethal doses of chlorantraniliprole on digestive enzyme activities in the 3rd instar larvae of *Pleonomus canaliculatus*

A：蛋白酶活力 Protease activity；B：α-淀粉酶活力 α-Amylase activity；C：脂肪酶活力 Lipase activity；D：海藻糖酶活力 Trehalase activity.

甲酰胺处理 1 h 和 6 h 后，各剂量处理组与对照相比无显著性差异（$P>0.05$）；处理后 12，24，48 和 72 h，各剂量处理组均低于对照（图 3：A）。沟金针虫 α-淀粉酶活力在氯虫苯甲酰胺处理后 1 h 和 6 h，各剂量处理组与对照相比差异不显著（$P>0.05$）；处理后 12 h，LC_{10} 和 LC_{25} 剂量组与对照相比无显著差异（$P>0.05$），但 LC_{40} 剂量组显著低于对照（$P<0.05$）；处理 24，48 和 72 h 后，各剂量处理组 α-淀粉酶活力均低于对照（图 3：B）。3 个低致死剂量氯虫苯甲酰胺处理后 1 h，脂肪酶活力与对照相比差异不显著（$P>0.05$）；处理后 6 h，LC_{10} 和 LC_{25} 剂量处理组与对照相比无显著差异（$P>0.05$），但 LC_{40} 剂量处理组显著低于对照（$P<0.05$）；脂肪酶活力在 LC_{10}，LC_{25} 和 LC_{40} 氯虫苯甲酰胺处理 12，24，48 和 72 h 后显著低于对照（$P<0.05$）（图 3：C）。3 个低致死剂量氯虫苯甲酰胺处理后 1 h，沟金针虫 3 龄幼虫海藻糖酶活力与对照相比差异不显著（$P>0.05$）；处理后 6 h，LC_{10} 剂量处理组与对照相比差异不显著（$P>0.05$），但 LC_{25} 和 LC_{40} 剂量处理组显著低于对照（$P<0.05$）；处理后 12，24，48 和 72 h，3 个低致死剂量组海藻糖酶活力显著低于对照（$P<0.05$）（图 3：D）。

2.5　氯虫苯甲酰胺对沟金针虫 3 龄幼虫解毒酶活力的影响

LC_{10}，LC_{25} 和 LC_{40} 剂量氯虫苯甲酰胺对沟金针虫 3 龄幼虫解毒酶活力的影响如图 4（A－C）所示。氯虫苯甲酰胺处理 1 h 后，各剂量处理组金针虫羧酸酯酶（CarE）活力与对照相比差异不显著（$P>$

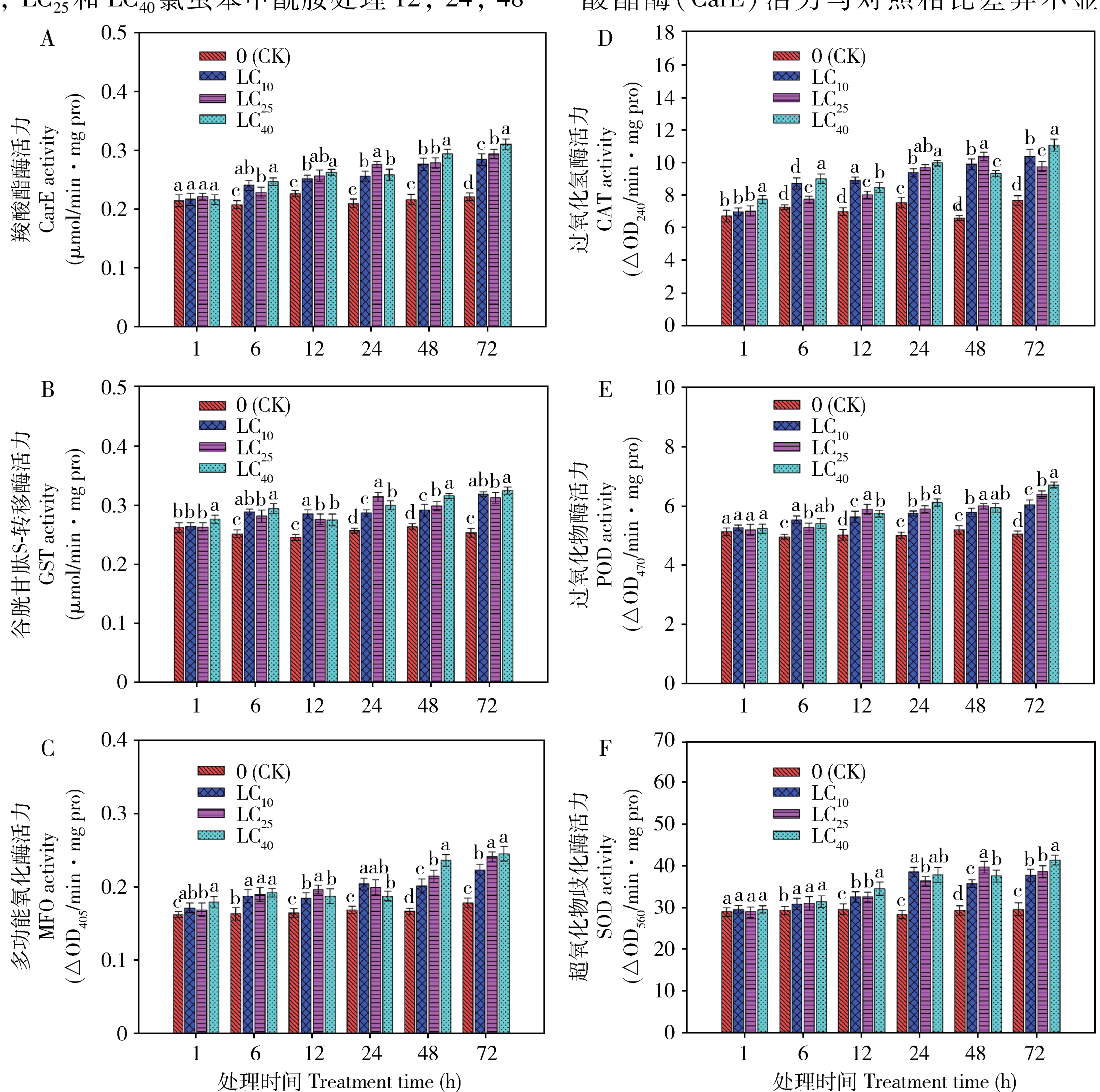


图 4　氯虫苯甲酰胺低致死剂量处理对沟金针虫 3 龄幼虫体内解毒酶和保护酶活力的影响

Fig. 4　Effects of low lethal doses of chlorantraniliprole on activities of detoxifying and protective enzymes in the 3rd instar larvae of *Pleonomus canaliculatus*

A：羧酸酯酶活力 CarE activity；B：谷胱甘肽 S-转移酶活力 GST activity；C：多功能氧化酶活力 MFO activity；D：过氧化氢酶活力 CAT activity；E：过氧化物酶活力 POD activity；F：超氧化物歧化酶活力 SOD activity.

0.05)，处理6, 12, 24, 48 和72 h后，各剂量处理组CarE活力均高于对照(图4: A)。沟金针虫在氯虫苯甲酰胺处理1 h后，LC_{10}和LC_{25}剂量处理组谷胱甘肽转移酶(GST)活力与对照相比无显著性差异($P>0.05$)，但LC_{40}剂量处理组GST活力显著高于对照($P<0.05$)；处理6, 12, 24, 48 和72 h后，各剂量处理组GST活力均高于对照(图4: B)。经3个低致死剂量氯虫苯甲酰胺处理1, 6, 12, 24, 48和72 h后，沟金针虫3龄幼虫多功能氧化酶(MFO)活力与对照相比显著提高($P<0.05$)(图4: C)。

2.6 氯虫苯甲酰胺对沟金针虫3龄幼虫保护酶活力的影响

氯虫苯甲酰胺低致死剂量对沟金针虫3龄幼虫体内保护酶活力的影响如图4(D－F)所示。在氯虫苯甲酰胺处理1 h后，LC_{10}和LC_{25}剂量处理组沟金针虫幼虫过氧化氢酶(CAT)活力与对照相比无显著差异($P>0.05$)，但LC_{40}剂量处理组CAT活力显著高于对照($P<0.05$)；处理后6, 12, 48 和72 h，各剂量处理组CAT活力均高于对照(图4: D)。氯虫苯甲酰胺处理后1 h，LC_{10}, LC_{25}和LC_{40}剂量处理组过氧化物酶(POD)活力和超氧化物歧化酶(SOD)活力与对照相比无显著性差异($P>0.05$)；处理后6, 12, 24, 48 和72 h，各剂量处理组POD和SOD活力均显著高于对照($P<0.05$)(图4: E和F)。

3 讨论

氯虫苯甲酰胺由于低毒、靶标独特、应用方法多样，已成为害虫综合治理策略中的一类重要药剂(李秀霞等, 2015; 赵平等, 2015)。本研究表明氯虫苯甲酰胺对沟金针虫3龄幼虫有较高的杀虫活性，随着高毒药剂的限用与禁用，氯虫苯甲酰胺可有效替代传统高毒农药在金针虫防治中的应用，何发林等(2019)研究也表明，氯虫苯甲酰胺种子处理对花生田金针虫和蛴螬有很好的防治效果。杀虫剂田间施用后，害虫大部分时间会处在药剂的亚致死剂量环境下，亚致死效应为害虫抗药性进化提供持续的选择压力，加快了害虫抗药性的产生(刘喃喃等, 2006; 尹飞等, 2014, 2016)。杀虫药剂的亚致死剂量不仅会对害虫生长发育和繁殖产生不同程度的影响(欧善生等, 2012)，也能引起一系列生理或行为上的变化(Desneux *et al.*, 2007)。

昆虫的营养利用是指昆虫将所取食的食物转化为生物量的能力，是摄食生态学的重要组成部分(Yazdani *et al.*, 2013)，外界不良胁迫往往会对昆虫的营养利用效率产生不利的影响(Xu *et al.*, 2016)。本研究结果表明，沟金针虫3龄幼虫暴露于氯虫苯甲酰胺处理的土壤后，其体内的消化酶(蛋白酶、α-淀粉酶、脂肪酶和海藻糖酶)活力迅速降低(图3)，严重影响了沟金针虫对食物的消耗与利用能力，导致其生长发育缓慢，其体内的蛋白质、脂质、碳水化合物和海藻糖等能量物质的含量也相应降低(图2)，直接影响到昆虫正常的生理和生化反应过程(丁金凤等, 2017; Zhao *et al.*, 2018)。

不同环境条件、寄主植物、化学药剂等选择压力对昆虫生长发育和药剂代谢等都表现出不同的影响(张林林等, 2013)。昆虫体内靶标酶($Na^+ + K^+$-ATP酶等)的敏感性降低、解毒酶(CarE, MFO和GST)的活性增强以及保护酶(SOD, POD和CAT)的活力提高或变化是导致昆虫产生抗药性的主要原因之一(罗雁婕等, 2008; 邢剑飞等, 2010)。昆虫解毒酶系的诱导作用是对内源和外源有毒物质(杀虫剂等)的一种适应(尹显慧等, 2008)，解毒酶活性能被各种外源胁迫诱导，使得昆虫在受到毒害时迅速做出应激反应，从而存活下来。昆虫体内的保护酶主要包括CAT, POD和SOD，昆虫可通过提高其体内保护酶活力以适应外界毒害的影响，从而增强其抗逆性和耐药性(贾变桃等, 2016)。CAT和POD具有分解H_2O_2的作用，而SOD能清除超氧阴离子自由基(O_2^-)而形成H_2O_2, H_2O_2能与O_2^-形成毒性更强的氢氧自由基(HO·)。正常情况下，细胞内自由基的产生和清除是在3种酶协调作用下进行的，处于动态平衡状态，使自由基维持在一个低水平，从而防止自由基对生物体的毒害，一旦保护酶系遭到破坏，导致生物机体内氧自由基浓度过高，将破坏生物功能分子，使细胞功能受到威胁(李周直等, 1994; 张友军等, 2003)。本研究发现，氯虫苯甲酰胺低致死剂量处理沟金针虫3龄幼虫后，体内CAT和SOD活力表现为明显诱导作用，而POD活力在处理前期无显著性影响，随着处理时间延长也表现为明显诱导作用(图4)，通过诱导体内保护酶活力的升高，清除细胞内产生的过多自由基以抵抗杀虫剂的毒害。

杀虫剂亚致死效应及其作用机理的研究是害虫可持续防治中一项重要的较为复杂的课题(全林发等, 2016)，而酶比活力可以作为一种生物标记来测定杀虫剂的亚致死效应(Rumpf *et al.*, 1997)。氯虫苯甲酰胺对沟金针虫幼虫具有较高的杀虫活性，低

致死剂量氯虫苯甲酰胺处理沟金针虫幼虫后，明显干扰了其对食物的消耗与利用能力，降低其体内的消化酶活性和能量物质含量，诱导解毒酶和保护酶活力升高。关于氯虫苯甲酰胺低致死剂量对沟金针虫产生这些影响的作用机理，有待深入研究。

参考文献（References）

Bernfeld P, 1955. Amylases alpha and beta. In: Colowick SP, Kaplans NO eds. Methods in Enzymology. Academic Press Inc., New York. 149 – 158.

Bradford MM, 1976. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein dye binding. *Anal. Biochem.*, 72(1 – 2): 248 – 254.

Cai H, Bai Y, Wei H, Lin S, Chen Y, Tian H, Gu XJ, Murugan K, 2016. Effects of tea saponin on growth and development, nutritional indicators, and hormone titers in diamondback moths feeding on different host plant species. *Pestic. Biochem. Physiol.*, 131: 53 – 59.

Chen JM, Chen ZQ, Yu XP, Zheng XS, Chen LZ, Zhang JF, 2006. Determination on the toxicity of 9 kinds safety insecticides to the larvae of *Anomala corpulenta* Motschulsky and *Bradysia odoriphaga* Yang *et* Zhang in the laboratory. *Acta Agric. Zhejiang.*, 18(5): 321 – 324. [陈建明, 陈忠其, 俞晓平, 郑许松, 陈列忠, 张珏锋, 2006. 九种无公害农药对铜绿金龟子和韭菜迟眼蕈蚊的毒力测定. 浙江农业学报, 18(5): 321 – 324]

Dang ZH, Gao ZL, Li YF, Yuan WL, Yuan LB, Shen YY, Wang JQ, Pan WL, 2009. Evaluation on the toxicity of 17 insecticides against *Agriotes fuscicollis* Miwa. *Agrochemicals*, 48(3): 213 – 214, 232. [党志红, 高占林, 李耀发, 袁文龙, 袁立兵, 申妍妍, 王吉强, 潘文亮, 2009. 17 种杀虫剂对细胸金针虫的毒力评价. 农药, 48(3): 213 – 214, 232]

Desneux N, Decourtye A, Delpuech JM, 2007. The sublethal effects of pesticides on beneficial arthropods. *Annu. Rev. Entomol.*, 52: 81 – 106.

Ding JF, Xu CM, Zhang ZQ, Zhao YH, Liu F, Mu W, 2017. Effects of cyantraniliprole on development, fecundity and nutritional utilization of *Athetis dissimilis*. *Sci. Agric. Sin.*, 50(22): 4307 – 4315. [丁金凤, 徐春梅, 张正群, 赵云贺, 刘峰, 慕卫, 2017. 溴氰虫酰胺对双委夜蛾生长发育、繁殖和营养利用的影响. 中国农业科学, 50(22): 4307 – 4315]

Du JH, Yu WL, Wang M, Zhang CG, Mu W, 2013. Selective toxicity of three amide pesticides to black cutworm *Agrotis ypsilon* and earthworm *Eisenia foetida*. *J. Plant Prot.*, 40(3): 266 – 272. [杜军辉, 于伟丽, 王猛, 张灿光, 慕卫, 2013. 三种双酰胺类杀虫剂对小地老虎和蚯蚓的选择毒性. 植物保护学报, 40(3): 266 – 272]

Feng HZ, Liu YH, He L, Lu RE, Yang DX, 2008. Effects of abamectin and temperature stresses on free radicals and protective enzyme activities in *Tetranychus cinnabarinus*. *J. Plant Prot.*, 35(6): 530 – 536. [冯宏祖, 刘映红, 何林, 陆蕊娥, 杨大兴, 2008. 阿维菌素和温度胁迫对朱砂叶螨自由基及保护酶活性的影响. 植物保护学报, 35(6): 530 – 536]

Gong QT, Zhang KP, Wu HB, Li SH, Zhang XP, Sun RH, 2016. Effect evaluation of 6 insecticides on *Anomala corpulenta*. *J. Fruit Sci.*, 33(12): 1542 – 1549. [宫庆涛, 张坤鹏, 武海斌, 李素红, 张学萍, 孙瑞红, 2016. 6 种杀虫剂对铜绿丽金龟防治效果评价. 果树学报, 33(12): 1542 – 1549]

Hama H, Hosoda A, 1983. High aliesterase activity and low acetylcholinestease sensitivity involved in organophosphorus and carbamate resistance of the brown planthopper, *Nilaparvata lugens* Stål (Homoptera: Delphacidae). *Appl. Entomol. Zool.*, 18(4): 475 – 485.

He FL, Jiang XY, Shang DL, Yao CT, Li XD, Zhang JW, 2019. Control effects of overground and underground insect pests of peanut by seed dressing with chlorantraniliprole. *J. Plant Prot.*, 46(1): 239 – 248. [何发林, 姜兴印, 尚佃龙, 姚晨涛, 李向东, 张吉旺, 2019. 氯虫苯甲酰胺种子处理对花生地上及地下害虫的防治效果. 植物保护学报, 46(1): 239 – 248]

Jia BT, Jiao P, Yang SM, 2016. Effects of sublethal concentrations of lufenuron on endogenous protective and detoxifying enzymes in the diamondback moth, *Plutella xylostella* (L.). *J. Plant Prot.*, 43(2): 293 – 299. [贾变桃, 焦鹏, 杨素梅, 2016. 虱螨脲亚致死浓度对小菜蛾保护酶系和解毒酶系活力的影响. 植物保护学报, 43(2): 293 – 299]

Li XX, Liang P, Gao XW, 2015. Research advances in resistance mechanisms of pest insects to diamide insecticides. *J. Plant Prot.*, 42(4): 481 – 487. [李秀霞, 梁沛, 高希武, 2015. 昆虫对双酰胺类杀虫剂抗性机制研究进展. 植物保护学报, 42(4): 481 – 487]

Li ZZ, Shen HJ, Jiang QG, Ji BZ, 1994. A study on the activities of endogenous enzymes of protective system in some insects. *Acta Entomol. Sin.*, 37(4): 399 – 403. [李周直, 沈惠娟, 蒋巧根, 嵇保中, 1994. 几种昆虫体内保护酶系统活力的研究. 昆虫学报, 37(4): 399 – 403]

Liu NN, Zhu F, Xu Q, Pridgeon JW, Gao XW, 2006. Behavioral change, physiological modification, and metabolic detoxification: mechanisms of insecticide resistance. *Acta Entomol. Sin.*, 49(4): 671 – 679. [刘喃喃, 朱芳, 徐强, Pridgeon JW, 高希武, 2006. 昆虫抗药性机理: 行为和生理改变及解毒代谢增强. 昆虫学报, 49(4): 671 – 679]

Liu ST, Duan AJ, Zhang ZQ, Liu CY, 2009. The control effect of chlorantraniliprole 35% WG on grubworm in peanut field. *Agrochemicals*, 48(10): 769 – 770. [刘顺通, 段爱菊, 张自启, 刘长营, 2009. 35%氯虫苯甲酰胺 WG 防治花生田蛴螬田间药效评价. 农药, 48(10): 769 – 770]

Lu JJ, Dong JM, Ren MF, Li X, Wu YP, Li DQ, Ma EB, 2017. Migration patterns of subterranean pest insects in the soil of winter wheat-summer corn rotation fields in Linfen, Shanxi. *Acta Entomol. Sin.*, 60(9): 1046 – 1059. [陆俊姣, 董晋明, 任美凤, 李霞, 武宇鹏, 李大琪, 马恩波, 2017. 山西临汾冬小麦-夏玉米轮作田地下害虫种群在土壤中的迁移规律. 昆虫学报, 60(9): 1046 – 1059]

Luo YJ, Gao XW, Wu WW, Pu ET, Yin KS, He CX, Guo ZX, 2008. Comparison of inhibition of acetylcholinesterase in susceptible and resistant strains of diamondback moth by insecticides. *Chin. J. Pestic. Sci.*, 10(2): 211-216. [罗雁婕, 高希武, 吴文伟, 浦恩堂, 尹可锁, 何成兴, 郭志祥, 2008. 药剂对小菜蛾抗性及敏感品系乙酰胆碱酯酶抑制作用比较. 农药学学报, 10(2): 211-216]

Oppenoorth FJ, van der Pas LJT, Houx NWH, 1979. Glutathione *S*-transferase and hydrolytic activity in a tetrachlorvinphos-resistant strain of housefly and their influence on resistance. *Pestic. Biochem. Physiol.*, 11(1-3): 176-188.

Ou SS, Liang P, Song DL, Shi XY, Gao XW, 2012. Effects of sublethal dosage of chlorantraniliprole on development and detoxifying enzymes activity of *Helicoverpa armigera*. *Plant Prot.*, 38(4): 1-8. [欧善生, 梁沛, 宋敦伦, 史雪岩, 高希武, 2012. 氯虫苯甲酰胺亚致死剂量对棉铃虫生长发育和解毒酶活性的影响. 植物保护, 38(4): 1-8]

Quan LF, Zhang HJ, Sun LN, Li YY, Yan WT, Yue Q, Qiu GS, 2016. Research advances in sublethal effect of pesticide. *J. Agric.*, 6(5): 33-38. [全林发, 张怀江, 孙丽娜, 李艳艳, 闫文涛, 岳强, 仇贵生, 2016. 杀虫剂对害虫的亚致死效应研究进展. 农学学报, 6(5): 33-38]

Rakotondravelo ML, Anderson TD, Charlton RE, Zhu KY, 2006. Sublethal effects of three pesticides on activities of selected target and detoxification enzymes in the aquatic midge, *Chironomus tentans* (Diptera: Chironomidae). *Arch. Environ. Contam. Toxicol.*, 51(3): 360-366.

Rumpf S, Hetzel F, Frampton C, 1997. Lacewings (Neuroptera: Hemerobiidae and Chrysopidae) and integrated pest management: enzyme activity as biomarker of sublethal insecticide exposure. *J. Econ. Entomol.*, 90(1): 102-108.

Sandhya C, Sumantha A, Szakacs G, Pandey A, 2005. Comparative evaluation of neutral protease production by *Aspergillus oryzae* in submerged and solid-state fermentation. *Process Biochem.*, 40(8): 2689-2694.

Simon LM, Fatrai Z, Jonas DE, Matkovics B, 1974. Study of peroxide metabolism enzymes during the development of *Phaseolus vulgaris*. *Biochem. Physiol. Pflanz.*, 166(5/6): 387-392.

Tian XL, Yin XH, Long YH, Li M, Cai T, Li RY, Zhu LH, 2016. Effect of low dose spinetoram on detoxification enzymes in *Plutella xylostella*. *Chin. J. Pestic. Sci.*, 18(5): 589-595. [田雪莲, 尹显慧, 龙友华, 李明, 蔡滔, 李荣玉, 朱流红, 2016. 低剂量乙基多杀菌素对小菜蛾解毒酶的影响. 农药学学报, 18(5): 589-595]

Tsujita T, Ninomiya H, Okuda H, 1989. P-nitrophenyl butyrate hydrolyzing activity of hormone-sensitive lipase from bovine adipose tissue. *J. Lipid Res.*, 30: 997-1004.

Vojoudi S, Saber M, Mir J, He JZ, Talaei-Hassanloui R, 2011. Toxicity of chlorpyrifos, spinosad and abamectin on cotton bollworm, *Helicoverpa armigera* and their sublethal effects on fecundity and longevity. *Bull. Insectol.*, 64(2): 189-193.

Wang HJ, Liu LW, Shu JP, Zhang Q, Xu TS, 2008. Research progress on the control techniques against wireworms (Coleoptera: Elateridae). *For. Pest Dis.*, 27(1): 27-30, 40. [王浩杰, 刘立伟, 舒金平, 张祺, 徐天森, 2008. 金针虫控制技术及其研究进展. 中国森林病虫, 27(1): 27-30, 40]

Wang SZ, Liu ST, Duan AJ, Wang LX, Miao J, 2014. Efficacy and virulence determination of different agents on *Anomala corpulenta* Motschulsky and instar larvae indoor. *Shanxi Agric. Sci.*, 42(6): 603-605, 624. [王淑枝, 刘顺通, 段爱菊, 王利霞, 苗进, 2014. 不同药剂对铜绿丽金龟卵和幼虫室内药效及毒力测定. 山西农业科学, 42(6): 603-605, 624]

Xi GC, Liu CQ, Liu YT, Feng XJ, Liu FS, Wu Y, Li JY, Wang QL, 2012. The sensitivity of the eggs of *Anomala corpulenta* Motschulsky to five types of insecticides. *Hebei Agric. Sci.*, 16(10): 54-55, 59. [席国成, 刘春琴, 刘艳涛, 冯晓洁, 刘福顺, 吴娱, 李靖宇, 王庆雷, 2012. 铜绿丽金龟卵对5种杀虫剂的敏感性测定. 河北农业科学, 16(10): 54-55, 59]

Xing JF, Liu Y, Yan DY, 2010. Progress on insect resistance to pyrethroid insecticides. *Environ. Sci. Technol.*, 33(10): 68-74. [邢剑飞, 刘艳, 颜冬云, 2010. 昆虫对拟除虫菊酯农药的抗性研究进展. 环境科学与技术, 33(10): 68-74]

Xu CM, Zhang ZQ, Cui KD, Zhao YH, Mu W, 2016. Effects of sublethal concentrations of cyantraniliprole on the development, fecundity and nutritional physiology of the black cutworm *Agrotis ipsilon* (Lepidoptera: Noctuidae). *PLoS ONE*, 11(6): e0156555.

Xu SC, Yu YF, Wang XJ, Wan Q, 2008. Rynaxypyr, a new insecticide and its research and development in application. *Mod. Agrochem.*, 7(5): 8-11. [徐尚成, 俞幼芬, 王晓军, 万琴, 2008. 新杀虫剂氯虫苯甲酰胺及其研究开发进展. 现代农药, 7(5): 8-11]

Yazdani E, Jalali Sendi J, Aliakbar A, Senthilnathan S, 2013. Effect of *Lavandula angustifolia* essential oil against lesser mulberry pyralid *Glyphodes pyloalis* Walker (Lep: Pyralidae) and identification of its major derivatives. *Pestic. Biochem. Physiol.*, 107(2): 250-257.

Yin F, Feng X, Li ZY, Lin QS, Hu ZD, Zhang DY, Chen HY, 2014. Effects of sublethal concentrations of chlorantraniliprole on detoxifying enzyme activity in *Plutella xylostella* (L.). *Plant Prot.*, 40(2): 66-69. [尹飞, 冯夏, 李振宇, 林庆胜, 胡珍娣, 张德雍, 陈焕瑜, 2014. 亚致死剂量氯虫苯甲酰胺对小菜蛾体内活性酶的影响. 植物保护, 40(2): 66-69]

Yin F, Chen HY, Feng X, Hu ZD, Lin QS, Li ZY, Bao HL, 2016. The role of detoxifying enzymes in the resistance of *Plutella xylostella* to spinetoram. *Chin. J. Appl. Entomol.*, 53(2): 314-319. [尹飞, 陈焕瑜, 冯夏, 胡珍娣, 林庆胜, 李振宇, 包华理, 2016. 乙基多杀菌素抗性小菜蛾代谢解毒酶酶活性研究. 应用昆虫学报, 53(2): 314-319]

Yin XH, Wu QJ, Li XF, Zhang YJ, Xu BY, 2008. Effect of sublethal concentrations of spinosad on the activities of detoxifying enzymes in the larvae of diamondback moth *Plutella xylostella*. *Chin. J. Pestic. Sci.*, 10(1): 28-34. [尹显慧, 吴青君, 李学锋, 张友军, 徐宝云, 2008. 多杀菌素亚致死浓度对小菜蛾解毒酶系活力的影响. 农药学学报, 10(1): 28-34]

Yu SJ, Nguyen SN, 1992. Detection and biochemical characterization of insecticide resistance in the diamondback moth. *Pestic. Biochem.*

Physiol., 44(1): 74 – 81.

Yuval B, Hollidayhanson ML, Washino RK, 2010. Energy budget of swarming male mosquitoes. *Ecol. Entomol*., 19: 274 – 278.

Zhang JF, Xue QZ, 2004. The activity dynamics of main protective enzymes in rice plants under feeding stresses of *Sogatella furcifera* and *Nilaparvata lugens*. *Sci. Agric. Sin*., 37(10): 1487 – 1491. [张金锋, 薛庆中, 2004. 稻飞虱为害胁迫对水稻植株内主要保护酶活性的影响. 中国农业科学, 37(10): 1487 – 1491]

Zhang LL, Li YH, Wu JX, 2013. Effects of various host plants on the development and protective enzyme activity of the black cutworm, *Agrotis ypsilon*. *Chin. J. Appl. Entomol*., 50(4): 1049 – 1054. [张林林, 李艳红, 仵均祥, 2013. 不同寄主植物对小地老虎生长发育和保护酶活性的影响. 应用昆虫学报, 50(4): 1049 – 1054]

Zhang MC, Yin J, Li KB, Cao YZ, Wu JX, 2014. Research progress on the occurrences of white grub and its control. *China Plant Prot*., 34(10): 20 – 28. [张美翠, 尹姣, 李克斌, 曹雅忠, 仵均祥, 2014. 地下害虫蛴螬的发生与防治研究进展. 中国植保导刊, 34(10): 20 – 28]

Zhang YJ, Wang GF, Wu QJ, Xu BY, Bai LY, Zhu GR, Zhang WJ, 2003. The toxicity of spinosad to beet armyworm and its effect on endogenous enzymes of protective system. *Chin. J. Pestic. Sci*., 5(3): 31 – 38. [张友军, 王光锋, 吴青君, 徐宝云, 柏连阳, 朱国仁, 张文吉, 2003. 杀菌素不同发育阶段甜菜夜蛾的毒力及其体内超氧化物歧化酶、过氧化氢酶和过氧化物酶的影响. 农药学学报, 5(3): 31 – 38]

Zhang ZQ, Zhang XF, Zhao YH, Mu W, Liu F, 2017. Efficacy of insecticidal seed treatments against the wireworm *Pleonomus canaliculatus* (Coleoptera: Elateridae) in China. *Crop Prot*., 92: 134 – 142.

Zhao JT, Yu YZ, 2010. Overview of researches of wireworm in China. *J. Agric. Sci*., 31(3): 49 – 55. [赵江涛, 于有志, 2010. 中国金针虫研究概述. 农业科学研究, 31(3): 49 – 55]

Zhao P, Yan QX, Li X, Zhang MH, Zhang Y, 2015. Status and perspective of diamide insecticides. *Pestic. Sci. Admin*., 36(11): 23 – 29. [赵平, 严秋旭, 李新, 张敏恒, 张悦, 2015. 双酰胺类杀虫剂的现状与展望. 农药科学与管理, 36(11): 23 – 29]

Zhao YH, Wang QH, Ding JF, Wang Y, Zhang ZQ, Liu F, Mu W, 2018. Sublethal effects of chlorfenapyr on the life table parameters, nutritional physiology and enzymatic properties of *Bradysia odoriphaga* (Diptera: Sciaridae). *Pestic. Biochem. Physiol*., 148: 93 – 102.

Zhao YH, Xu CM, Wang QH, Wei Y, Liu F, Xu SY, Zhang ZQ, Mu W, 2016. Effects of the microbial secondary metabolite benzothiazole on the nutritional physiology and enzyme activities of *Bradysia odoriphaga* (Diptera: Sciaridae). *Pestic. Biochem. Physiol*., 129: 49 – 55.

Zhu XL, Lu XJ, Liu ZH, Zhao D, Li RJ, Guo W, 2017. Effects of six weeds on herbivory and fecundity of northern China scarab beetle *Holotrichia oblita*. *J. Plant Prot*., 44(2): 351 – 352. [朱秀蕾, 陆秀君, 刘子欢, 赵丹, 李瑞军, 郭巍, 2017. 六种杂草对华北大黑鳃金龟甲取食和繁殖的影响. 植物保护学报, 44(2): 351 – 352]

(责任编辑: 赵利辉)